# The Gazette of India

#### **EXTRAORDINARY**

भाग II—खण्ड 3—उप-खण्ड (ii) PART II—Section 3—Sub-section (ii)

प्राधिकार से प्रकाशित PUBLISHED BY AUTHORITY

सं. 1190] No. 1190]

नई दिल्ली, शुक्रवार, जून 22, 2012/आषाढ़ 1, 1934 NEW DELHI, FRIDAY, JUNE 22, 2012/ASADHA 1, 1934

#### कृषि मंत्रालय

(कृषि एवं सहकारिता विभाग)

#### आदेश

नई दिल्ली, 22 जून, 2012

का.आ. 1420(अ).— केन्द्रीय सरकार, आवश्यक वस्तु अधिनियम, 1955 (1955 का 10) की धारा 3 द्वारा प्रदत्त शक्तियों का प्रयोग करते हुए उर्वरक (नियंत्रण) आदेश, 1985 का और संशोधन करने के लिए निम्नलिखित आदेश करती है, अर्थात्:-

- (1) इस आदेश का संक्षिप्त नाम उर्वरक नियंत्रण (संशोधन) आदेश, 2012 है। 1.
  - (2) यह राजपत्र में प्रकाशन की तारीख को प्रवृत्त होगा ।
- उर्वरक (नियंत्रण) आदेश, 1985 में,-2.
  - (क) अनुसूची । के, भाग क में, "उर्वरकों के विनिर्देश" शीर्षक के अधीन,-
  - उप-शीर्षक "1 (घ) एन.पी. मिश्रित उर्वरकों" में, (i)
    - (क) क्रम संख्या "12, नाइट्रोफास्फेट (23-23-0)" और उससे संबंधित प्रविष्टियों का लोप किया जायेगा :
  - (ख)क्रम संख्या 17 और उससे संबंधित प्रविष्टियों के पश्चात निम्नलिखित क्रम संख्यांक और प्रविष्टियां जोड़ी जाएंगी अर्थात्-

# " 18 नाइट्रोफास्फेट (24:24:0)

(i) भार के आधार पर आर्द्रता का प्रतिशत, अधिकतम

1.5

(ii) भार के आधार पर कुल नाइट्रोजन का प्रतिशत, न्यूनतम

24.0

(iii) भार के आधार पर अमोनिकल रुप में नाइट्रोजन का प्रतिशत, न्यूनतम

13.5

	CAZETE OF INDIA : EXTRAORDINARI	====
)	THE GAZETTE OF INDIA: EXTRAORDINARY	10.5
=	(iv) भार के आधार पर नाइट्रेट के रूप में नाइट्रोजन का प्रतिशत, अधिकतम	
	(iv) भार के आधार पर भारत कर कार्या माहरेट हालनशील फास्फेट (पी2आ5क रूप म)	
	(iv) भार के आधार पर नाइट्रेट के रूप में नाइट्रेट व्युलनशील फास्फेट (पी2ओ5के रूप में)	24.0
	का प्रतिशत न्यनतम	
	का अस्तिस्ति है के महानाशील फास्फेट (पी2ओ5 के रूप म) का	۰۵ ۲
	का प्रतिशत, न्यूनतम (vi) भार के आधार पर पानी में घुलनशील फास्फेट (पी2ओ5 के रूप में) का	20.5
,	प्रतिशत, न्यूनतम	
٠.		•
(	७११) फार आया । उ प्रातिसार स	
	vii) कण आकार- सामग्री का 90 प्रांतशत से जन्नू । पर रह जायेगा । 5 प्रतिशत से से निकल जाएगा और 1 मि.मी. भा0मा0 छलनी पर रह जायेगा । 5 प्रतिशत से	
	अनिधिक 1 मि.मी.भा0मा0 छलनी से नीचे रहेगा ।"	
	Slotter -	^ ^ <u> </u>

- उप शीर्षक "1(च) सूक्ष्म पोषक तत्व" में क्रम संख्यांक. "8 चिलेटेड जिंक, जिंक-इडीटीए के रुप में" में शब्दों "दिखावट-सुप्रवाह क्रिस्टालाइन/पाउडर" शब्दों के स्थान पर" दिखावट-सुप्रवाह क्रिस्टालाइन अथवा पाउडर अथवा टिकिया" शब्द रखे जाएंगे ।
- उप-शीर्षक "1 (छ) फोरटीफाइड उर्वरक " में,-
  - (क) क्रम संख्यांक 3 और उससे संबंधित प्रविष्टियों के स्थान पर, निम्नलिखित क्रम संख्यांक और प्रविष्टियां रखी जाएंगी अर्थात्-

# "3 जिंकेटेड फास्फेट (सस्पेन्शन)-बीज उपचार हेतु

क्रा के सा में का प्रतिशत, न्यूनतम	13.9
(i) भार के आधार पर कुल फास्फेट (पी2ओ5 के रुप में) का प्रतिशत, न्यूनतम	17.6
भू कर्म कर कर जिंदिल (जिंदिएल के <sup>१९५</sup> ०)	
(111) भार के आधार पर न्यूट्रल अमानियम साउप उ	2.8
<u> </u>	0.003
(पी2ओ5के रूप म) की प्रातरात, क्यूरात (पी2ओ5के रूप में) का प्रतिशत, अधिकतम (iv) भार के आधार पर सीसा (पीबी के रूप में) का प्रतिशत, अधिकतम	8+/-1";
(v) पीएच	

क्रम सं. 10 और उससे संबंधित प्रविष्टियों के पश्चात, निम्नतिखित क्रम संख्यांक और (ख) प्रविष्टियां जोड़ी जाएंगी, अर्थात्-

# "11 जिंक से सम्पुष्ट डीएपी (18:46:0:0.5)

On the state of th	2.5
(i) भार के आधार पर आर्द्रता का प्रतिशत, अधिकतम	18.0
	15.5
भ कर्णना मा अमीलेकल लीड्टाजन या अस्तरास र	2.5
कार्य पर मिया नाइटीजन की प्रातशत, जावनरा	
्र (iv)भार के आधार पर व्यूर्स अमोनियम साइट्रेट घुतनशील फास्फेट (v)भार के आधार पर न्यूट्रल अमोनियम साइट्रेट घुतनशील फास्फेट	

(पी2ओ5 के रुप में) का प्रतिशत,न्यूनतम	46.0
(vi) भार के आधार पर पानी में घुलनशील फास्फेट(पी2ओ5 के रुप में)का	
प्रतिशत, न्यूनतम	41.0
(vii) भार के आधार पर जिंक(जैडएन के रूप में)का प्रतिशत, न्यूनतम	0.5
(viii) कण आकार- सामग्री का 90 प्रतिशत से अन्यून 4 मि0मी0 भा0मा0 छे	लनी
से निकल जाएगा और 1 मि.मी. भा0मा0 छलनी पर रह जायेगा । !	5 प्रतिशत
से अनिधिक 1 मि.मी.भा0मा0 छलनी से नीचे रहेगा ।	

(iv) "100% जल विलेय समिश्र उर्वरक" से संबंधित उप-शोर्षक 1 (ज) में, क्रम सं. 16 और उससे संबंधित प्रविष्टियों के पश्चात निम्नलिखित क्रम संख्यांक और प्रविष्टियां जोड़ी जाएंगी, अर्थात्-

"17	एनपीकेजेडएन	(7	7.6:23.5:7.6:3.5)

(i) भार के आधार पर आर्द्रता का प्रतिशत, अधिकतम	0.5
(ii) भार के आधार पर कुल नाइट्रोजन का प्रतिशत, न्यूनतम	7.6
(iii) भार के आधार पर नाइट्रेट नाइट्रोजन का प्रतिशत, अधिकतम	2.8
(iv) भार के आधार पर अमोनिकल नाइट्रोजन का प्रतिशत, न्यूनतम	5.0
(ए) भार के आधार पर पानी में घुलनशील फास्फेट (पी2ओ5 के रूप में)	
का प्रतिशत, न्यूनतम	23.5
(vi) भार के आधार पर पानी में घुलनशील पोटाश (के2ओ)का	
प्रतिशत, न्यूनतम	7.6
(vii) भार के आधार पर पानी में घुलनशील जिंक (जैडएन-ईडीटीए के रूप में)	
का प्रतिशत, न्यूनतम	3.5
(viii) भार के आधार पर सोडियम (एनएसीएल के रूप में) का प्रतिशत शृष्क	
आधार पर, अधिकतम	0.15
(ix) भार के आधार पर पानी में अघुलनशील पदार्थ, अधिकतम	0.5";

### (ख) अनुसूची ॥ में:-

<sup>(</sup>i) भाग क में, शीर्षक "जैव उर्वरकों का विनिर्देश" के अधीन क्रम संख्यांक 5 और उससे संबंधित \* प्रविष्टियों के पश्चात, निम्नलिखित क्रम संख्यांक और प्रविष्टियां जोड़ी जाएंगी, अर्थात्,-

# "6. पोटेशियम मोबिलाइजिंग जैव उर्वरक (केएमबी)

 आधार आर्द्र/शुष्क चूर्ण या दार्नेदार के रूप में वाहक आधारित अथवा तरल आधारित

 व्यवहार्य कोशिका सं. सीएफयू चूर्ण, दानेदार या वाहक सामग्री का शुष्क भार आधार पर न्यूनतम 5x10 कोशिका प्रति ग्रा. अथवा तरल का 1x10 कोशिका प्रति मि.ली.

3. संदूषण 10 <sup>5</sup> तनुकरण पर कोई संदूषण नहीं ।

4. पीएच चूर्ण या दानेदार के रूप में वाहक आधारित हेतु 6.5-7.5 और तरल आधारित के लिए 5.0-7.5

5. वाहक आधारित आर्द्र चूर्ण सामग्री 0.15 से 0.212 मि.मी. भा.मा. छलनी में से छन जाएगी चूर्ण के मामले में कण आकार

6. चूर्ण आधारित के 30-40 मामले में भार के आधार पर आर्द्रता का प्रतिशत, अधिकतम

7. क्षमता विशेषता

कम से कम 3 मि.मी. मोटाई वाले निर्धारित माध्यम में घुलनशील जोन न्यूनतम 10 मि.मी.

वाहक की किस्म- वाहक सामग्री जैसे पीट, लिग्नाईट, पीट मृदा, हयूमस, टॉक अथवा समरूप सामग्री जो सूक्ष्म जीव के विकास में सहायक हो ।

# 7. जस्ता घुलनशील जैव उर्वरक (जेडएसबी)

1. आधार आर्द्र/शुष्क चूर्ण या दानेदार के रूप में वाहक आधारित अथवा तरल आधारित

2. टयवहार्य कोशिका सं. सीएफयू चूर्ण, दानेदार या वाहक सामग्री का शुष्क भार आधार पर न्यूनतम 5x10 कोशिका प्रति ग्रा. अथवा तरल का 1x10 कोशिका प्रति ग्रा. अथवा तरल का 1x10 कोशिका प्रति ग्रा. अथवा तरल का 1x10 कोशिका

3. संदूषण 10 <sup>5</sup> तनुकरण पर कोई संदूषण नहीं ।

4. पीएच

चूर्ण या दानेदार के रूप में वाहक आधारित हेतु 6.5-7.5 और तरल आधारित के लिए 5.0-7.5

- 5. वाहक आधारित आर्द्र चूर्ण सामग्री 0.15 से 0.212 मि.मी. भा.मा. छलनी में से छन जाएगी चूर्ण के मामले में कण आकार
- चूर्ण आधारित के 30-40 मामले में भार के आधार पर आर्द्रता का प्रतिशत, अधिकतम
- 7. क्षमता विशेषता कम से कम 3 मि.मी. मोटाई वाले निर्धारित माध्यम में घुलनशील जोन न्यूनतम 10 मि.मी."
- (ii) भाग घ में, शीर्षक "जैव उर्वरकों के विश्लेषण की रीति" के अधीन क्रम सं. 1 ई और उससे संबंधित प्रविष्टियों के पश्चात निम्नलिखित प्रविष्टियां जोड़ी जाएंगी अर्थात्, -

"। एफ. पोटाश घुलनशील जैव उर्वरकों के विश्लेषण की रीति (केएसबी)

- 1. कुल व्यहार्य गणन और संदूषण का आकलन
- 1. साधित्र -
- 1.1 अंशांकित पिपेट 1 मि.ली. और 10 मि.ली.
- 1.2 तनुकरण बोतले अथवा फ्लास्क
- 1.3 पेट्री डिशेज पारदर्शी, समरूप, चपटीतली वाली
- 1.4 गर्म-वायु ओवन जो एक समान और पर्याप्त तापमान देने में सक्षम हों, जिसमें थर्मामीटर लगा हो जो 250 डिग्री सें. तक मापने में समर्थ हो और उसमें वीनस उचित रूप से अवस्थित हो ताकि सटीक एवं समान गर्मी को स्निश्चित किया जा सके ।
- 1.5 आटोक्लेव
- 1.6 इनक्यूबेटर
- 1.7 हैंड टेली या यांत्रिकी गणन उपकरण
- 1.8 पीएच मीटर
- 2. अभिकर्मक
- 🚋 2.1 माध्यम

2068 96/12-2

कुल व्यवहार्य गणन और संदूषण के लिए निम्नलिखित संरचना का प्लेटिंग माध्यम उपयोग करें

कुल व्यवहार्य गणन और संदूषण के विश्लेषण हेतु माध्यम (संघटक ग्रा./ली.) 15.0 मैनिटोल 3.0 यीस्ट एक्सट्रैक्ट 2.0 पेप्टोन 18.5 अगार 1 एमएल

ट्रेस एलीमेंट घोल 1000 एमएल

आसवित जल

ट्रेस एलीमेंट घोल (संघटक ग्रा./ली.)

0.20 सोडियम मोलिबिडेट 0.28 बोरिक एसिड 0.23

मैंगनीज सल्फेट 0.01 कॉपर सल्फेट 0.03

जिंक सल्फेट 1000 ਦਸਦਕ आसवित जल

केएसबी में सोल्यूबिलाइजेशन के अध्ययन जोन हेतु माध्यम (संघटक ग्रा./ली.)

5.0 ग्लूकोज 0.005 मैग्निशियम सल्फेट 0.1 फेरिक क्लोराइड 2.0 कैल्शियम कार्बोनेट 2.0 पोटेशियम मिनरल (माइका चूर्ण) 2.0 कैल्शियम फास्फेट

1000 ਦਸਦਕ , आसंवित जल

- 2.2 प्लेटों के लिए विसंक्रमण एवं तैयारी संबंधी प्रक्रिया
- 2.2.1 160 डिग्री सेल्सियस से कम पर 2 घंटे से अधिक अवधि के लिए एक गर्म वायु ओवन में शुष्क ताप के साथ सेम्पिलेंग और प्लेटिंग उपकरण को विसंक्रमित करें।
- 2.2.2 20 मिनट तक 120 डिग्री सं. पर आटोक्लेविंग द्वारा माध्यम को विसंक्रमित करें । आटोक्लेव के दौरान बन्द कन्टेनर से भाप के आने-जाने के मार्ग को बनाए, काग को कुछ ढ़ीला रखें या रूई से बन्द रखें । स्टेटरिलाइजर के चैम्बर के भीतर की हवा को इस प्रकार छोड़ें जिससे भाप का दबाव बढ़े ।
- 2.3 प्लेटिंग माध्यम तैयार करना और प्रवाहित करना ।
- 2.3.1 विनिर्दिष्ट जैव उर्वरक की संरचना के अनुसार विकास माध्यम तैयार करें।
- 2.3.2 उबलते पानी में माध्यम की अपेक्षित मात्रा को पिघलाएं या आंशिक रूप से बन्द कन्टेनर में प्रवाहित भाप में खोल कर पिघलाएं लेकिन पिघलने के दौरान और बाद में अनावश्यक उच्च तापमान में लम्बे समय तक खोलने से बचें । माध्यम को पर्याप्त पिघलाएं जिसका प्रयोग तीन घण्टे में किया जायेगा । माध्यम के पुन: विसंक्रमण से संघटकों के आंशिक अवक्षेपण की स्थिति आ सकती है ।
- 2.3.3 जब रखने का समय 30 मिनट से कम हो तब पिघले माध्यम को लगभग 45 डिग्री सें. तक शीघ ठण्डा करें और प्रयोग में लाने तक 43 से 45 डिग्री सें. पर वाटर बाथ या इनक्यूबेटर में स्टोर करें । प्रत्येक प्लेट में 42 से 44 डिग्री से. पर 12 से 15 मि.ली. तरलीकृत माध्यम या पैट्री डिश के आकार के आधार पर उचित मात्रा को मिलाएं । डिश के कवर को हल्के हाथ से उतना ही उठाएं जितने में माध्यम डाला जा सके । ली में माध्यम कन्टेनरों के ढक्कन को खोल कर इसे विसंक्रमित करें ।
  - (क) डालने के तुरन्त पहले
  - (ख) डालते समय रूक-रूक कर, और
  - (ग) जब प्लेटों के प्रत्येक बैच के लिए डालने का कार्य पूरा हो जाए, यदि कन्टेनरों में पिघले माध्यम के अंश शेष रहते हों और अतिरिक्त प्लेटों को डालने के लिए अनुवर्ती विसंक्रमण के बिना प्रयोग किया जाना होता है । प्रत्येक प्लेट डाला

जाता है, इसलिए पैट्रीडिस में परीक्षण वाले अंशों के साथ माध्यम को सघनता से मिलाएं ।

- 2.3.4 डिस को घुमाते हुए और झुकाते हुए जिससे किनारे तक माध्यम का छिड़काव न होने पाए, माध्यम को प्लेट की तली पर फैलाएं । ऐसी स्थिति बनाएं जिससे सतह के स्तर से प्लेटों को हटाने से पहले माध्यम तर्क संगत ढंग से (5 -10 मिनट) ठोस हो सके ।
- प्लेट गणना के लिए क्रमिक तनुकरण की तैयारी:
- 3.1 90 एमएल विसंक्रमित आसवित डीमिनिरलाइज्ड जल में 10 ग्राम इनोकुलेन्ट मिलाएं और रेसीप्रोकल शेकर या होमोजेनाइजर पर 10 मिनट तक हिलाएं । 10 तक श्रेणीबद्ध घोलों को तैयार करें । विसंक्रमित पीपेट का प्रयोग करते हुए 1:1 एमएल या10 से 10 चोलों के उचित एलीकोटस को लें और सेट माध्यम वाले पेट्रीडिसेज में डालें जैसा कि 2.1 में दिया गया है और स्प्रेडर के साथ समान रूप से इसे फैलाएं अथवा ड्रापलेट विधि का उपयोग करें । प्लेटों को बदलें और उन्हें शीघ्र इन्क्यूबेटर में रखें ।
  - प्लेटों का इन्क्यूबेशन:
  - 4.1 प्लेटों पर लेबल लगाएं और 4 से 6 दिवसों के लिए 28+/-2 डिग्री सेल्सियल पर इन्क्यूबेट करें ।
  - 4.2 कालोनी काउन्टिंग एड्स:
    समरूप और यथोचित नियंत्रित कृत्रिम प्रदीपन के तहत आवर्धक लेंस की सहायता से
    समरूप और यथोचित नियंत्रित कृत्रिम प्रदीपन के तहत आवर्धक लेंस की सहायता से
    कालोनियों को गिनें। एक कालोनी काउन्टर (गणित्र) का प्रयोग करें जो मार्गदर्शी प्लेट
    और वर्ग सेंटीमीटर से खींची हुई रेखा से सज्जित हो। हैंड टैली के साथ कालोनियों की
    और वर्ग सेंटीमीटर से खींची हुई रेखा से सज्जित हो। हैंड टैली के साथ कालोनियों की
    कुल संख्या का रिकार्ड रखें। कालोनियों का धूल, कणिकाओं और अन्य विजातीय पदार्थ
    से अन्तर करने के लिए संदेहास्पद वस्तुओं की सावधानी पूर्वक जांच करें।
  - 4.3 सभी प्लेटों की गणना करें परन्तु परिकलन के उद्देश्य से प्रति प्लेट 30 से अधिक तथा 300 से कम कालोनी दर्शाने वाली प्लेटों पर विचार करें । उन कालोनियों को छोड़ दें जो कागो रैंड को सोख लेती है और रैंडिश कालोनी के रूप में स्पष्ट दिखाई देती हैं । फिचुरिया औरेंशिया (केएमबी) सफेद-अपारदर्शी चमकने वाली और उभार वाली कालोनियों के रूप में स्पष्ट दिखाई देती हैं । ऐसी कालोनियों की संख्या की गिनती करें और वाहक

के प्रति लीटर के रूप में आंकड़ों की गणना करें । 10 तनुकरण पर संदूषण से मुक्ति की भी जांच करें ।

#### 5. गणना

कालोनी गणित्र की सहायता से विलायक जोन के साथ कालोनियों सहित प्लेटों पर कालोनियों की कुल संख्या की गणना करें।

- 6. 'के' विलायक जोनों के प्राक्कलन की पद्धति
- 6.1 90 मि.ली. विसंक्रमित आसवित जल में केएसबी का 10 ग्रा. लें।
- 6.2 10<sup>7</sup> तक दस गुना तनुकरण श्रृंखलांए बनाएं।
- 6.3 विसंक्रमित पिपेटों का उपयोग करते हुए 10 <sup>5</sup> से 10 <sup>17</sup> तनुकरण के 1.0 मि.ली. एलीक्वोट लें और के- विलायक जोन माध्यम वाली पेट्रीडिशेज में डालें ।
- 6.4 इसे समरूपता से फैलाएं, प्लेटों को उल्टा करें और 2 सप्ताह तक 28+/-2 डिग्री सें. पर इन्क्यूबेट करें ।
- 6.5 विलायक जोनों को दर्शाने वाली कालोनियों की गणना करें और विलायक जोन का व्यास मापें । विलायक का औसत जोन मि.मी. में परिकलित करें ।
- । जी. जिंक घुलनशील जैव उर्वरकों के विश्लेषण की पद्धति
  - कुल व्यहार्य गणन और संदूषण का आकलन
     साधित -
- 1.1 अंशांकित पिपेट 1 मि.ली. और 10 मि.ली.
- 1.2 तनुकरण बोतलें अथवा फ्लास्क
- 1.3 पेट्री डिशेज पारदर्शी, समरूप, चपटीतली वाली
- 1.4 गर्म-वाय् ओवन

जो एक समान और पर्याप्त तापमान देने में सक्षम हों, जिसमें थर्मामीटर लगा हो जो 250 डिग्री सें. तक मापने में समर्थ हो और उसमें वीनस उचित रूप से अवस्थित हो ताकि सटीक एवं समान गर्मी को सुनिश्चित किया जा सके।

- 1.5 आटोक्लेव
- 1.6 इनक्यूबेटर
- 17 हैंड टेली या मैकेनिकल गणन उपकरण
- 1.8 पीएच मीटर

- 2. अभिकर्मक
- 2.1 माध्यम

कुल व्यवहार्य गणन और संदूषण के लिए निम्निलिखित संरचना का प्लेटिंग माध्यम उपयोग करें कुल व्यवहार्य गणन और संदूषण के विश्लेषण हेतु माध्यम और जैडएन विलायन जैव उर्वरक हेतु विलायक का जोन

(मंघटक	ग्रा./ली.)
(संवद्ध	WILL CHAP

ग्लूकोज	10.0
जिंक आक्साइड	1.0
अमोनियम सल्फेट	0.5
पोटेशियम क्लोराइड	0.2
यीस्ट एक्सट्रैक्ट	0.5
फेरस सल्फेट	0.01
भैंगनीज सल्फेट	0.01
डाई पोटेशियम हाइड्रोफास्फेट	0.5
आसवित जल	1000 एमएल

- 2.2 प्लेटों के लिए विसंक्रमण एवं तैयारी संबंधी प्रक्रिया
- 2.2.1 160 डिग्री सेल्सियस से कम पर 2 घंटे से अधिक अविध के लिए एक गर्म वायु ओवन में शुष्क ताप के साथ सेम्पलिंग और प्लेटिंग उपकरण को विसंक्रमित करें ।
- 2.2.2 20 मिनट तक 120 डिग्री सें. पर आटोक्लेविंग द्वारा माध्यम को विसंक्रमित करें । आटोक्लेव के दौरान बन्द आधानों से भाप के आने-जाने के मार्ग को बनाए, काग को कुछ ढ़ीला रखें या रूई से बन्द रखें । स्टेरिलाइजर के चैम्बर के भीतर की हवा को इस प्रकार छोड़ें जिससे भाप का दबाव बढ़ें ।
- 2.3 प्लेटिंग माध्यम तैयार करना और प्रवाहित करना ।
- 2.3.1 विशिष्ट जैव उर्वरक की संरचना के अनुसार विकास माध्यम तैयार करें।

- 2.3.2 उबलते पानी में माध्यम की अपेक्षित मात्रा को पिघलाएं या आंशिक रूप से बन्द कन्टेनर में प्रवाहित भाप में खोल कर पिघलाएं लेकिन पिघलने के दौरान और बाद में अनावश्यक उच्च तापमान में लम्बे समय तक खोलने से बचें । माध्यम को पर्याप्त पिघलाएं जिसका प्रयोग तीन घण्टे में किया जायेगा । माध्यम के पुन: विसंक्रमण से संघटकों के आंशिक अवक्षेपण की स्थिति आ सकती है ।
- 2.3.3 जब रखने का समय 30 मिनट से कम हो तब पिघले माध्यम को लगभग 45 डिग्री सें. तक शीघ्र ठण्डा करें और प्रयोग में लाने तक 43 से 45 डिग्री सें. पर वाटर बाथ या इनक्यूबेटर में स्टोर करें । प्रत्येक प्लेट में 42 से 44 डिग्री से. पर 12 से 15 मि.ली. तरलीकृत माध्यम या पैट्री डिश के आकार के आधार पर उचित मात्रा को मिलाएं । डिश के कवर को हल्के हाथ से उतना ही उठाएं जितने में माध्यम डाला जा सके । ली में माध्यम कन्टेनरों के ढक्कन को खोल कर इसे विसंक्रमित करें ।
- (क) डालने के तुरन्त पहले
- (ख) डालते समय रूक-रूक कर, और
- (ग) जब प्लेटों के प्रत्येक बैच के लिए डालने का कार्य पूरा हो जाए, यदि आधानों में पिघले माध्यम के अंश शेष रहते हों और अतिरिक्त प्लेटों को डालने के लिए अनुवर्ती विसंक्रमण के बिना प्रयोग किया जाना होता है। प्रत्येक प्लेट डाला जाता है, इसलिए पैट्रीडिस में परीक्षण वाले अंशों के साथ माध्यम को सघनता से मिलाएं।
- 2.3.4 डिस को घुमाते हुए और झुकाते हुए जिससे किनारे तक माध्यम का छिड़काव न होने पाए, माध्यम को प्लेट की तली पर फैलाएं । ऐसी स्थिति बनाएं जिससे सतह के स्तर से प्लेटों को हटाने से पहले माध्यम तर्क संगत ढंग से (5-10 मिनट) ठोस हो सके ।
- प्लेट गणना के लिए क्रमिक तनुकरण की तैयारी:
- 3.1 90 एमएल विसंक्रमित आसवित डीमिनिरलाइज्ड जल में 10 ग्राम इनोकुलेन्ट मिलाएं और रेसीप्रोकल शेकर या होमोजेनाइजर पर 10 मिनट तक हिलाएं । 10 तक श्रेणीबद्ध घोलों को तैयार करें । विसंक्रमित पीपेट का प्रयोग करते हुए 1:0 एमएल या10 से 10 पि घोलों के उचित एलीकोटस को लें और सेट माध्यम वाले पेट्रीडिसेज में डालें जैसा कि 2.1 में दिया गया है और स्प्रेडर के साथ समान रूप से इसे फैलाएं अथवा ड्रापलेट विधि का उपयोग करें । प्लेटों को बदलें और उन्हें शीघ्र इन्क्यूबेटर में रखें ।

- प्लेटों का इन्क्यूबेशन 4.
- प्लेटों पर लेबल लगाएं और 4 से 6 दिवसों के लिए 28+/-2 डिग्री सेल्सियल पर 4.1 इन्क्यूबेट करें ।
- कालोनी काउन्टिंग एड्स: 4.2

समरूप और यथोचित नियंत्रित कृत्रिम प्रदीपन के तहत आवर्धक लेंस की सहायता से कालोनियों को गिनें । एक कालोनी काउन्टर (गणित्र) का प्रयोग करें जो मार्गदर्शी प्लेट और वर्ग सेंटीमीटर से खींची हुई रेखा से सज्जित हो । हैंड टैली के साथ कालोनियों की कुल संख्या का रिकार्ड रखें ।

- सभी प्लेटों की गणना करें परन्तु परिकलन के उद्देश्य से प्रति प्लेट 30 से अधिक तथा 300 से कम कालोनी दर्शाने वाली प्लेटों पर विचार करें । उन कालोनियों को छोड़ दें जो 4.3 कांगो रैंड को सोख लेती है और रैंडिश कालोंनी के रूप में स्पष्ट दिखाई देती है । जिंक घुलनशील जैव उर्वरक सफेद-पारभासी चमकने वाली और उत्थित कालोनियों के रूप में । ऐसी कालोनियों की संख्या की गिनती करें और वाहक के प्रति स्पष्ट दिखाई देता है लीटर के रूप में आंकड़ों की गणना करें । 10 तनुकरण पर संदूषण से मुक्ति की भी जांच करें।
- कालोनी गणित्र की सहायता से विलायक जोन के साथ कालोनियों सहित प्लेटों पर कालोनियों की कुल संख्या की गणना करें।
- जिंक विलायक जोनों के प्राक्कलन की पद्धति 6.
- 90 मि.ली. विसंक्रमित आसवित जल में जैडएसबी का 10 ग्रा. लें । 6.1
- 107 तक दस गुना तनुकरण शृंखलांए बनाएं । 6.2
- विसंक्रमित पिपेटों का उपयोग करते हुए 10<sup>5</sup> से 10<sup>7</sup> तनुकरण के 1.0 मि.ली. एलीक्वोट 6.3 लें और जिंक विलायक जोन माध्यम वाली पेट्रीडिशेज में डालें ।
- इसे समरूपता से फैलाएं, प्लेटों को उल्टा करें और 2 सप्ताह तक 28+1-2 डिग्री सें. पर 6.4 इन्क्यूबेट करें ।
- विलायक जोनों को दर्शाने वाली कालोनियों की गणना करें और विलायक जोन का व्यास 6.5 मापें । विलायक का औसत जोन मि.मी. में परिकलित करें ।

अनुसूची. IV में भाग क में, "जैविक उर्वरक का विनिदर्शन" शीर्षक के अधीन क्रम सं. (탁) 2 और उससे संबंधित प्रविष्टियों के पश्चात निम्नलिखित क्र.सं. और प्रविष्टियां जोड़ी जाएंगी

" 3 फार्स्फेट प्रचुर कार्बनिक खाद (पीआरओएम)

सीसा (पीबी के रूप में)

जिंक (जैडएन के रूप में)

(i) भार के आधार पर आर्द्रता का प्रतिशत, अधिकतम (ii) कण आकार- न्यूनतम 90 प्रतिशत सामग्री 4 मि0मी0 भा0मा0 छलनी से निकल जाएगी ।	15.0-25.0
(iii) प्रपुंज घनत्व (ग्रा./सं.मी. <sup>3</sup> ) (iv) भार के आधार पर कल कार्यी के अधार पर कल कार्यों के अधार पर कल कार्यी के अधार पर कल कार्यी के अधार पर कल कार्यों के अधार पर कल कार्यी के अधार पर कल कार्यी के अधार पर कल कार्यों के अधार पर कल कार्यों के अधार पर कल कार्यी के अधार पर कल कार्यों के अधार पर कार्यों के अधार के अधार के अधार के अधार के अधार कार्यों के अधार	1.646
(iv) भार के आधार पर कुल कार्बनिक कार्बन का प्रतिशत, न्यूनतम (v) भार के आधार पर कुल नाइट्रोजन (एन के रूप में) का प्रतिशत, न्यूनतम (vi) भार के आधार पर कुल नाइट्रोजन (एन के रूप में) का प्रतिशत, न्यूनतम	7.87
(vi) भार के आधार पर कुल फास्फेट (पी2ओ5 के रूप में) का प्रतिशत, न्यूनतम (vii) भार के आधार पर कुल फास्फेट (पी2ओ5 के रूप में) का प्रतिशत, न्यूनतम	0.42
(vii) भार के आधार पर कुल पोटाश (के2ओं के रूप में) का प्रतिशत, न्यूनतम (viii) सी:एन अनपात	10.42
(viii) सी:एन अनुपात	=
(ix) पीएच (1:5 घोल) अधिकतम	18.73:1
(x) संचालनीयता (डीएसएम के रूप में) से अपनि	6.72
(xi) भारी धातु अन्तर्वस्तु (एमजी/िक.ग्रा. के रूप में), अधिकतम	8.27
आर्सेनिक (एएस2ओ3 के रूप में)	
केडमियम (सीडी के रूप में)	10.0
क्रोमियम (सीआर के रूप में)	5.0
तांबा (सीयू के रूप में)	50.0
पारा (एचजी के रूप में)	300.00
निकल (एनआइ के रूप में)	0.15
2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2	50.0

[फा. सं. 2-1/2012-उर्व.विधि] नरेन्द्र भूषण, संयुक्त सचिव

50.0

100.0

1000.0

**पाद टिप्पण.**—मूल आदेश भारत के राजपत्र में सं. सा.का.नि. 758(अ), तारीख 25 सितम्बर, 1985 द्वारा प्रकाशित किया गया था और उसके पश्चात् का.आ. 2203(अ), तारीख 22 सितम्बर, 2011 द्वारा संशोधित किया गया।

#### MINISTRY OF AGRICULTURE

#### (Department of Agriculture and Co-operation) ORDER '

New Delhi, the 22nd June, 2012

- S.O. 1420(E).—In exercise of the powers conferred by section 3 of the Essential Commodities Act, 1955 (10 of 1955), The Central Government hereby makes the following Order further to amend the Fertilizer (Control) Order, 1985, namely:-
  - 1. (1) This Order may be called the Fertilizer Control (Amendment) Order, 2012.
    - (2) It shall come into force on the date of its publication in the Official Gazette.

In Fertilizer (Control) Order, 1985,-

- (A) in Schedule I, in Part A, under the heading "SPECIFICATIONS OF FERTILISERS",-
- in sub-heading "1 (d) N.P. COMPLEX FERTILISERS",-(i)
  - (a) serial number "12. Nitrophosphate (23-23-0)" and the entries relating thereto, shall be omitted;
  - (b) after serial number 17 and the entries relating thereto, the following serial number and entries shall be inserted, namely:-

#### Nitrophosphate (24:24:0)

<b>(3)</b>	Moisture per cent. by weight, maximum	1.5
(i)	Total nitrogen per cent. by weight, minimum	24.0
(ii)	Nitrogen in ammonical form per cent. by weight, minimum	13.5
(iii)	Nitrogen in ammonical form per cent. by weight, maximum  Nitrogen in nitrate form, per cent. by weight, maximum	10.5
(iv) (v)	Neutral ammonium citrate soluble phosphate (as P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	
(٧)	per cent, by weight, minimum	24.0
(vi)	Water soluble phosphate (as P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ) per cent, by weight, minimum	20.5
(vii)	Particle size: Not less than 90 per cent. of the material shall pass	
( /	through 4mm IS sieve and be retained on 1mm IS sieve.	
	Not more than 5 per cent shall be below 1mm IS sieve."	

- sub-heading "1 (f) MICRONUTRIENTS",in serial number "8 (ii) Chelated Zinc as Zn-EDTA", for the words, "Appearance- free flowing crystalline/powder" the words "Appearance- free flowing crystalline or powder or tablet" shall be substituted
- in sub-heading "1 (g) FORTIFIED FERTILISERS",-(iii)
  - for serial number 3 and the entries relating thereto, the following serial number and entries shall be substituted, namely:-
    - "3. Zincated Phosphate (Suspension) for seed treatment

<b>7</b> !5		<u> </u>	
(i)	Total phosphate (as P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ) per cent. by weight, minimum.	13.9	
(ii)	Total zinc (as Zn) per cent. by weight, minimum.		
` /	rotal zine (as zin) per cent. by weight, minimum.	17.6	
(iii)	Neutral ammonium citrate soluble phosphate (as P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ) per cent. by weight, minimum	2.8	
(iv)	Lead (as Pb) per cent. by weight, maximum	0.003	
(v)	pH	8+/-1";	

(b) after serial number 10 and the entries relating thereto, the following serial number and entries shall be inserted, namely:-

## "11. DAP fortified with Zinc (18:46:0:0.5)

(i)	Moisture per cent. by weight, maximum.	2.5
(ii)	Total nitrogen per cent, by weight, minimum	18.0
(iii)	Ammonical nitrogen per cent. by weight, minimum	15.5
(iv)	Urea nitrogen percent, by weight, maximum	2.5
(v)	Neutral ammonium citrate soluble phosphate (as P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ) per cent. by weight, minimum	46.0
(vi)	Water soluble phosphate (as P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ) per cent. by weight, minimum	41.0
(vii)	Zinc (as Zn) per cent. by weight, minimum	0.5
(viii)	Particle size: Not less than 90 per cent of the material shall pass through 4mm IS sieve and be retained on 1mm IS sieve. Not more than 5 per cent shall be below 1mm IS sieve."	<b>0.</b> 5

(iv) in sub-heading "1 (h) 100% WATER SOLUBLE COMPLEX FERTILISER", after serial number 16 and the entries relating thereto, the following serial number and entries shall be inserted, namely:-

## "17 NPKZn (7.6:23.5:7.6:3.5)

(i)	Moisture per cent. by weight, maximum	0.5
(ii)	Total nitrogen per cent. by weight, minimum	7.6
(iii)	Nitrate nitrogen per cent. by weight, maximum	2.8
(iv)	Ammonical nitrogen per cent. by weight, minimum	5.0
(v)	Water soluble phosphate (as P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ) per cent. by weight minimum	23.5
(vi)	Water Soluble Potash (K <sub>2</sub> O ) per cent. by weight, minimum	7.6
(vii)	Water Soluble Zinc (as Zn EDTA) per cent. by weight, minimum	3.5
(viii)	Sodium (as NaCl) per cent. by weight, on dry basis maximum	0.15
(ix)	Matter insoluble in water per cent. by weight, maximum";	0.5

#### (B) in Schedule III, -

(i) in Part A, under the heading "SPECIFICATIONS OF BIOFERTILIZERS" after serial number 5 and the entries relating thereto, the following serial number and entries shall be inserted, namely:-

# "6. Potassium Mobilizing Biofertilizers (KMB)

1.	Base	Carrier based in form of moist/dry powder or granules, or liquid based
2.	Viable cell count	CFU minimum 5x10' cells/g of powder, granules or carrier material on dry weight basis or 1x10 <sup>8</sup> cell/ml of liquid
3.	Contamination	No contamination at 10 <sup>5</sup> dilution
4.	pН	6.5 - 7.5 for carrier based in form of powder or granules and $5.0 - 7.5$ for liquid based
5.	Particle size in case of carrier based moist powder	Powder material shall pass through 0.15 to 0.212 mm IS sieve
6.	Moisture per cent. by weight, maximum in case of powder based	30 – 40
7.	Efficiency character	Minimum 10 mm solubilization zone in prescribed media having at least 3mm thickness.

Type of carrier – The carrier material such as peat, lignite, peat soil, humus, talc or similar material favouring growth of microorganisms.

## 7. Zinc Solubilizing Biofertilizers (ZSB)

1. 2.	Base Viable cell count	Carrier based in form of moist/dry powder or granules, or liquid based CFU minimum 5x10 <sup>7</sup> cells/g of powder, granules or carrier material on dry weight basis
3.	Contamination	or 1x10 <sup>8</sup> cell/ml of liquid No contamination at 10 <sup>5</sup> dilution
4.	pH	6.5 - 7.5 for carrier based in form of powder or granules and $5.0 - 7.5$ for liquid based
5.	Particle size in case of carrier based moist powder	Powder material shall pass through 0.15 to 0.212 mm IS sieve
6.	Moisture content percent. by weight, maximum in case of	30 – 40
7.	carrier based Efficiency character	Minimum 10 mm solubilization zone in prescribed media having at least 3mm thickness."

(ii) in PART D, under the heading METHODS OF ANALYSIS OF BIOFERTILISERS", after serial number 1E and entries relating thereto, the following entries shall be inserted, namely:-

# "IF. Method of analysis for Potash Solubilizing Biofertilizers (KSB)

- 1. Estimation of total viable count and contamination 1. Apparatus -
- 1.1 Pippettes graduated 1ml and 10 ml
- 1.2 Dilution bottles or flasks
- 1.3 Petri dishes clear, uniform, flat-bottomed
- 1.4 Hot -air oven

Capable of giving uniform and adequate temperature, equipped with a thermometer, caliberated to read upto 250°C and with venus suitably located to assure prompt and uniform heating.

- 1.5 Autoclave
- 1.6 Incubator
- 1.7 Hand tally or mechanical counting device
- 1.8 pH meter
- 2. Reagents
- 2.1 Medium

Use plating medium of the following composition for total viable count and contamination

Medium for analysis of total viable count and contamination (Ingredients g/lit)

15.0
3.0
2.0
18.5
l ml
1000 ml

Trace element solution
(Ingredients g/lit)
Sodium molybdate
Boric acid
Manganese sulphate
Copper sulphate
Zinc sulphate
Distilled Water

0.20
0.28
0.28
0.23
0.01
0.01
0.03

Medium for studying zone of solubilization in KSB

(Ingredients g/lit)	
Glucose ,	5.0
Magnesium sulphate	0.005
Ferric chloride	0.1
Calcium carbonate	2.0
Potassium mineral (mica powder)	2.0
Calcium phosphate	2.0
Distilled water	1000 ml

- 2.2 Sterilizing and preparation procedure for plates
- 2.2.1 Sterlize the sampling and plating equipment with dry heat in a hot air oven at less than 160°C for not less than 2 hours;
- 2.2.2 Sterilize the media by autoclaving at 120°C for 20 min. To permit passage of steam into and from closed containers when auto claved, keep stoppers slightly lossened or plugged with cotton. Air from within the chamber of the sterilizer should be ejected allowing steam pressure to rise.
- 2.3 Preparation of plating medium and pouring
- 2.3.1 Prepare growth medium in accordance with the composition of the specific biofertiliser.
- 2.3.2 Melt the required amount of medium in boiling water or by exposure to flowing steam in partially closed container but avoid prolonged exposure to unnecessarily high temperature during and after melting. Melt enough medium which will be used within 3 h. Re-sterlisation of the medium may cause partial precipitation of ingredients.
- 2.3.3 When holding time is less than 30 min. promptly cool the molten medium to about 45°C, and store until used, in a water bath or incubator at 43 to 45°C. Introduce 12 to 15 ml of liquefied medium or appropriate quantity depending on size of the petri dish at 42 to 44°C into each plate. Gently lift the cover of the dish just enough to pour in the medium. Sterlise the lips of the medium containers by exposure to flame.
  - Immediately before pouring, (a)

Periodically during pouring, and (b)

- When pouring is complete for each batch of plates, if portions of molten medium (c) remain in containers and are to be used without subsequent sterilization for pouring additional plates. As each plate is poured thoroughly mix the medium with test portions in the petri dish.
- 2.3.4 By rotating and tilting the dish and without splashing the medium over edge, spread the medium evenly over the bottom of the plate. Provide conditions so that the medium solidifies with reasonable promptness (5-10 min) before removing the plates from level surface.
- Preparation of Serial Dilution for Plate Counts: 3.
- Dispense 10 g of inoculants to 90 ml of sterile distilled demineralized water and shake 3.1. for 10 min on a reciprocal shaker or homogenizer. Make serial dilutions upto 1010. Take 1:0 ml or suitable aliquots of 106 to 109 dilutions using sterile pipettes and deliver to petri dishes containing set medium as given in 2.1 and spread it uniformly with a spreader or use droplet method. Invert the plates and promptly place them in the incubator.
- Incubation of Plates: 3.
- 4.1 Label the plates and incubate at  $28 \pm 2^{\circ}$ C for 4 to 6 days.
- 4.2 Colony counting aids:

Count the colonies with the aid of magnifying lens under uniform and properly controlled, artificial illumination. Use a colony counter, equipped with a guide plate and rules in centimeter square. Record the total number of colonies with the hand tally. distinguish colonies from dirt, specks and other foreign matter, examine doubtful objects carefully.

- Count all plates but consider for the purpose of calculation plates showing more than 30 4.3 and less than 300 colonies per plate. Disregard colonies which absorb congo red and stand out as reddish colonies. Fraturia aurentia (KMB) stand out as white-opaque glistening and domed colonies. Count such colony numbers and calculate figures in terms of per litre, of carrier. Also check for freedom from contamination at 105
- 4. Counting Count the total number of colonies on the plates including colonies with solubilisation zone with the help of a colony counter.
- Method for estimation of K solubilization zones 5.
- Take 10 g of KSB in 90 ml sterile distilled water 6.1
- Make a tenfold dilution series up to  $10^7$ . 6.2
- Take 1.0 ml aliquot of 10<sup>5</sup> to 10<sup>7</sup> dilutions using sterile pipettes and deliver to petri 6.3 dishes containing K-solubilization zone media. 6.4
- Spread it uniformly, Invert the plates and incubate for up to 2 weeks at 28 ±2°C.
- 6.5 Count the colonies showing solubilization zones and measure the diameter of solubilization zone. Calculate average zone of solubilization in mm.
- IG. Method of analysis for Zinc Solubilizing Biofertilizers
- Estimation of total viable count and contamination I.Apparatus -
- Pippettes graduated 1ml and 10 ml 1.1
- 1.2 Dilution bottles or flasks
- 1.3 Petri dishes clear, uniform, flat-bottomed
- 1.4 Hot -air oven

Capable of giving uniform and adequate temperature, equipped with a thermometer, caliberated to read upto 250°C and with venus suitably located to assure prompt and uniform heating.

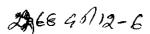
- 1.5 Autoclave
- 1.6 Incubator
- Hand tally or mechanical counting device 1.7
- 1.8 pH meter
- 2. Reagents
- Medium

Use plating medium of the following composition for total viable count and contamination

Medium for analysis of Total Viable Count, Contamination and zone of solubilisation for Zn solubilizing biofertilizer (Ingredients g/lit)

Glucose

10.0



reti.la	1.0
Zinc oxide	0.5
Amm sulphate Potassium chloride	0.2
	0.5
Yeast extract Ferrous sulphate	0.01
Manganese sulphate	0.01
Di Pot Hyd.phosphate	0.5
Distilled water	1000 ml
Distilled water	

Sterilizing and preparation procedure for plates:

- 2.2.1 Sterlize the sampling and plating equipment with dry heat in a hot air oven at less than 160°C for not less than 2 hours;
- 2.2.2 Sterilize the media by autoclaving at 120°C for 20 min. To permit passage of steam into and from closed containers when auto claved, keep stoppers slightly lossened or plugged with cotton. Air from within the chamber of the sterilizer should be ejected allowing steam pressure to rise.
- Preparation of plating medium and pouring 2.3
- 2.3.1 Prepare growth medium in accordance with the composition of the specific
- 2.3.2 Melt the required amount of medium in boiling water or by exposure to flowing steam in partially closed container but avoid prolonged exposure to unnecessarily high temperature during and after melting. Melt enough medium which will be used within 3 hours. Re-sterlization of the medium may cause partial precipitation of ingredients.
- 2.3.3 When holding time is less than 30 min. promptly cool the molten medium to about 45°C, and store until used, in a water bath or incubator at 43 to 45°C. Introduce 12 to 15 ml of liquefied medium or appropriate quantity depending on size of the petri dish at 42 to 44°C into each plate. Gently lift the cover of the dish just enough to pour in the medium. Sterlise the lips of the medium containers by exposure to flame.
  - a. Immediately before pouring.
  - b. Periodically during pouring, and
  - c. When pouring is complete for each batch of plates, if portions of molten medium remain in containers and are to be used without subsequent sterilization for pouring additional plates. As each plate is poured thoroughly mix the medium with test portions in the petri dish.
  - By rotating and tilting the dish and without splashing the medium over edge, spread the medium evenly over the bottom of the plate. Provide conditions so that the medium solidifies with reasonable promptness (5-10 min) before removing the plates from level surface.
  - 3. Preparation of Serial Dilution for Plate Counts:
  - Dispense 10 g of inoculants to 90 ml of sterile distilled de-mineralized water and shake for 10 min on a reciprocal shaker or homogenizer. Make serial dilutions upto 3.1 10<sup>10</sup>. Take 1.0 ml or suitable aliquots of 10<sup>6</sup> to 10<sup>9</sup> dilutions using sterile pipettes and

deliver to petri dishes containing set medium as given in 2.1 and spread it uniformly with a spreader or used droplet method. Invert the plates and promptly place them in

#### 4. Incubation of Plates:

- 4.1 Label the plates and incubate at 28 ±2°C for 4 to 6 days.
- 4.2 Colony counting aids:

Count the colonies with the aid of magnifying lens under uniform and properly controlled, artificial illumination. Use a colony counter, equipped with a guide plate and rules in centimeter square. Record the total number of colonies with the hand tally.

Count all plates but consider for the purpose of calculation plates showing more than 30 and less than 300 colonies per plate. Disregard colonies which absorb congo red and stand out as reddish colonies. Zinc solubilising biofertilisers stands out as white, translucent, glistening and elevated colonies. Count such colony numbers and calculate figures in terms of per litre, of carrier. Also check for freedom from contamination at 10<sup>5</sup> dilution.

#### 5. Counting

Count the total number of colonies on the plates including colonies with solubilization zone with the help of a colony counter.

# 6. Method for estimation of Zinc solubilisation zones

- Take 10 g of ZSB in 90 ml sterile distilled water 6. l
- Make a tenfold dilution series up to  $10^7$ . 6.2
- 1.0 ml aliquot of 10<sup>5</sup> to 10<sup>7</sup> dilutions using sterile pipettes and deliver to petri dishes 6.3 containing Zinc - solubilization zone media.
- 6.4 Spread it uniformly, Invert the plates and incubate for up to 2 weeks at  $28 \pm 2^{\circ}$ C.
- 6.5 Count the colonies showing solubilization zones and measure the diameter of solubilization zone. Calculate average zone of solubilization in mm.
- (D) In Schedule IV, in PART A, under the heading "SPECIFICATIONS OF ORGANIC FERTILISERS", after serial number 2 and the entries relating thereto, the following serial number and entries shall be inserted, namely: -

## "3. Phosphate rich Organic manure (PROM)

(i) (ii)	Moisture per cent. by weight, maximum Particle size- Minimum 90% material should Pass through 4.0 mm IS sieve	15.0-25.0
(iii) (iv) (v) (vi) (vii)	Bulk density (g/cm <sup>3</sup> ) Total organic carbon per cent. by weight, minimum Total nitrogen (as N) per cent. by weight, minimum Total phosphates (as P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ) per cent. by weight, minimum Total potash (as K <sub>2</sub> O) per cent. by weight, minimum	1.646 7.87 0.42 10.42

	THE CAZETTE OF INDIA: EXTRAORDINARY	[PART II—SEC3(ii)]
(viii) (ix) (x) (xi)	C: N ratio pH (1:5 solution) maximum Conductivity (as dSm <sup>-1</sup> ) not more than Heavy metal content (as mg/kg), maximum Arsenic (as As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ) Cadmium (as Cd) Chromium (as Cr) Copper (as Cu) Mercury (as Hg) Nickel (as Ni) Lead (as Pb)	18.73:1 6.72 8.27 10.0 5.0 50.0 300.0 0.15 50.0 100.0
·	Nickel (as Ni)	- ·

[F. No. 2-1/2012-Fert.Law] NARENDRA BHOOSHAN, Jt. Secy.

Note:—The principal order was published in the Gazette of India, Extraordinary, Part II, section 3, sub-section (i) vide number G.S.R. No. 758(E) dated 25<sup>th</sup> September, 1985 and was subsequently amended vide S.O. No. 2203 dated 22<sup>nd</sup> September, 2011